

# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR2005/000339

International filing date: 04 February 2005 (04.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR  
Number: 10-2004-0007404  
Filing date: 05 February 2004 (05.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 16 January 2007 (16.01.2007)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland  
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office

출 원 번 호 : 10-2004-0007404  
Application Number

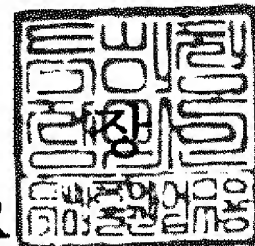
출 원 일 자 : 2004년 02월 05일  
Date of Application FEB 05, 2004

출 원 인 : 주식회사 리젠 바이오텍 외 1 명  
Applicant(s) REGEN BIOTECH, INC., et al

2007 년 01 월 15 일

특 허 청

COMMISSIONER



**【서지사항】**

<b>【서류명】</b>	특허출원서
<b>【권리구분】</b>	특허
<b>【수신처】</b>	특허청장
<b>【제출일자】</b>	2004.02.05
<b>【발명의 국문명칭】</b>	어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 조성물
<b>【발명의 영문명칭】</b>	Composition for preventing and treating allergic diseases comprising extracts of Houttuynia cordata and Rubus coreanus
<b>【출원인】</b>	
<b>【명칭】</b>	주식회사 리젠 바이오텍
<b>【출원인코드】</b>	1-2000-037614-6
<b>【출원인】</b>	
<b>【성명】</b>	송창호
<b>【출원인코드】</b>	4-1995-119183-8
<b>【대리인】</b>	
<b>【성명】</b>	김석현
<b>【대리인코드】</b>	9-1998-000634-1
<b>【포괄위임등록번호】</b>	2004-000581-1
<b>【포괄위임등록번호】</b>	2004-006746-4
<b>【발명자】</b>	
<b>【성명】</b>	송창호
<b>【출원인코드】</b>	4-1995-119183-8
<b>【발명자】</b>	
<b>【성명의 국문표기】</b>	채옥희
<b>【성명의 영문표기】</b>	CHAI ,Ok Hee
<b>【주민등록번호】</b>	670219-2483111

【우편번호】 561-211

【주소】 전북 전주시 덕진구 호성동 1가 900번지 호성주공아파트  
203동 1004 호

【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 박용인

【성명의 영문표기】 PARK,yong in

【주민등록번호】 620525-1901939

【우편번호】 619-905

【주소】 부산시 기장군 기장읍 동부리 395-3 혜성아파트 202호

【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 이동신

【성명의 영문표기】 LEE,dong sin

【주민등록번호】 630222-2047312

【우편번호】 427-806

【주소】 경기도 과천시 중앙동 37 주공APT 104동 103호

【국적】 KR

【취지】 특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다.

대리인

김석현 (인)

【수수료】

【기본출원료】 50 면 38,000 원

【가산출원료】 0 면 0 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 0 항 0 원

【합계】 38,000 원

【감면사유】 소기업(70%감면)

【감면후 수수료】

11,400 원

【첨부서류】

1. 소기업임을 증명하는 서류[사업자등록증, 원천징수이행상  
황신고서] \_1통

## 【요약서】

### 【요약】

본 발명은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물에 관한 것이다. 본 발명의 조성물은 알레르기 질환을 예방 또는 치료하는 효과가 있으며, 세포독성을 나타내지 않아 생체에 안전하게 사용할 수 있는 효과가 있다.

### 【대표도】

도 1

### 【색인어】

어성초, 복분자, 알레르기 질환

## 【명세서】

### 【발명의 명칭】

어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 조성물{Composition for preventing and treating allergic diseases comprising extracts of Houttuynia cordata and Rubus coreanus}

### 【도면의 간단한 설명】

- <1> 도 1은 본 발명의 생약재 추출물 및 히스타민 유리 유도물질인 compound 48/80을 처리한 흰쥐 복강 비만세포의 형태 변화를 광학현미경으로 관찰한 사진이다(A: 무처리군, B: compound 48/80 처리군, C: 어성초와 복분자의 혼합 추출물 처리군, D: 어성초와 복분자의 혼합 추출물과 compound 48/80 처리군).
- <2> 도 2는 본 발명의 어성초 추출물, 복분자 추출물, 산수유 추출물, 산사 추출물 및 상엽 추출물의 세포 독성 실험 결과를 나타낸 그래프이다.
- <3> 도 3은 본 발명의 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 포함하는 제제를 투여한 알레르기성 피부질환 환자의 치료 전과 치료 후의 병변을 나타낸 사진이다(A: 아토피성 피부염 환자의 치료 전, B: 아토피성 피부염 환자의 치료 후, C: 아토피성 피부염 환자의 치료 전, D: 아토피성 피부염 환자의 치료 후).
- <4> 도 4는 기존 치료제를 투여한 알레르기성 피부질환 환자의 치료 전과 치료 후의 병변을 나타낸 사진이다(A: 아토피성 피부염 환자의 치료 전, B: 아토피성 피

부염 환자의 치료 후).

**【발명의 상세한 설명】**

**【발명의 목적】**

**【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<5> 본 발명은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다. 보다 구체적으로, 본 발명은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 약학적 조성물 또는 기능성 식품 조성물에 관한 것이다.

<6> 최근 들어, 산업의 발달로 인해 환경오염이 증가하고 주거 환경이 변화함에 따라 알레르기 질환이 날로 증가하고 있다.

<7> 알레르기(Allergy)란 대부분의 사람에게서는 아무런 반응을 나타내지 않는 외부 물질에 대해 인체의 면역 기전이 보통보다도 과민한 반응을 나타낼 때 유발되는 증상을 총칭한다. 알레르기 반응 과정 중 발생하는 임상 증상들은 반응 초기의 특이적 면역반응과 반응 후기의 염증반응 등이 있다. 반응 초기의 특이적 면역반응은 거의 대부분 비만세포(mast cell)를 매개로 일어나며, 비만세포의 세포막에 존재하는 고친화성의 IgE 수용체(Fc $\epsilon$ RI)를 통해서 활성화된다.

<8> 상기 비만세포는 피부, 호흡기, 위장관 점막, 임파관 주위, 혈관 주위 및 뇌



등 전신의 장기에 널리 분포한다. 상피 비만세포는 세포막에 존재하는 IgE 수용체에 결합되어 있는 IgE 항체가 외부로부터 유입된 항원 또는 알러겐에 의하여 가교(bridge)를 형성하면 활성화되어 비만세포를 탈과립시킴으로써 비만세포 내 과립에 저장되어 있던 히스타민, 헤파린 및 단백질 분해 효소 등의 화학 물질들을 유리시킨다. 이 중에서 히스타민은 가장 빨리 유리되어 말초혈관 확장 작용, 기관지 평활근 수축작용, 선세포의 분비 항진 작용 등을 나타냄으로써 즉각적인 알레르기 반응 및 염증반응을 일으킨다.

<9> 비만세포의 탈과립 현상을 활성화시키는 인자들로는 항원, compound 48/80 (Panton, *British Journal of Pharmacology*, 1951), IgE 항체, IgE 수용체에 대한 항체, IgE 다이머, Con A, 항생제 폴리믹신 B(topical antibiotics polymyxin B), 폴리라이신 폴리펩티드(polylysine polypeptides), 알파-키모트립신(alpha-chymotrypsin), 돼지 췌장 포스포리파제 A<sub>2</sub>(porcine pancreatic phospholipase A<sub>2</sub>) 등의 효소들의 자극 및 칼슘이온 연관 자극 분비(Ca<sup>2+</sup> coupled stimulation secretion) 기전에 의한 자극(Ischizaka T *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 1903, 1980), 고리형 뉴클레오티드 수준(cyclic nucleotide level) 변화, 단백질 키나제(protein kinase)의 활성화에 따른 인산화(phosphorylation) 증가(Dagmar B *et al.*, *Cancer Research*, 35, 2056, 1975), 비만세포의 세포골격인 액틴 섬유(actin filament), 중간 섬유(intermediate filament) 및 미세소관의 변형(Lagunoff D and Chi EY, *J. Cell Biol.* 71, 182, 1976) 등이 알려져 있다.

<10> 한편, 상기 비만세포에서 유리된 화학적 매개 물질들은 여러 알레르기 질환들 즉, 천식과 알레르기성 비염, 알레르기성 중이염, 아나필락틱 쇼크(anaphylatic shock), 알레르기성 피부질환 등을 유발한다. 이 중에서 알레르기성 피부질환은 흔한 피부질환으로, 대개 만성적인 경과와 함께 소양감으로 인해 환자들의 정서적 발달, 숙면, 일상생활 등에 지장을 주어 심한 정신적, 육체적 고통을 초래하기도 한다. 상기 알레르기성 피부질환으로는 아토피성 피부염, 접촉성 피부염, 두드러기 및 건선 등이 대표적이다. 아토피성 피부염은 병인에 대해서 아직 정확히 알려져 있지 않으며 생후 2~6개월의 유아에서 발생하는 만성 습진이다. 아토피성 피부염에 대한 치료는 알레르기를 일으키는 물질을 판명하여 그 원인 물질을 생활에서 제거하는 것이 가장 중요하며 증세가 심한 경우는 전신적 약물로서 항히스타민 제제를 투여하거나 국소적으로 부신피질 호르몬을 외용하도록 하고 있다. 접촉성 피부염은 습진의 일종으로 외부 물질이 피부에 닿아서 일으키는 피부의 과민 반응이다. 접촉성 피부염은 접촉 물질에 따라 일광 접촉성 피부염, 수은 접촉성 피부염 또는 금속 접촉성 피부염 등으로 구분하고 있다. 두드러기는 염증에 의해 피부의 상층부에 부종이 발생하여 피부가 일시적으로 부풀어 오르는 현상으로 가려움을 동반하는 피부 과민 반응이다. 두드러기는 여러 가지 원인과 기전에 의해 비만 세포 및 호염기구 세포(basophil)에서 여러 가지 화학 매개체들이 유리되고, 이 매개체들이 피부의 미세 혈관에 작용하여 미세 혈관을 확장하고 혈관의 투과성을 증가시켜서 혈관으로부터 단백질이 풍부한 액체가 진피 조직으로 새어나와 발생하는 것

으로 알려져 있다. 건선(psoriasis)은 은백색의 인설로 덮여 있고 경계가 뚜렷하며 크기가 다양한 홍반성 구진 및 판(plaque)을 형성하며 조직학적으로 상피의 증식을 특징으로 하는 만성 염증성 피부질환이다. 건선은 호전과 악화를 반복하는 원인 미상의 질환으로 증상의 경증도에 따라 다양한 치료법이 개발되어 사용되고 있으나 근본적인 치료는 어려운 질환이다.

<11> 현재, 알레르기 질환의 치료에는 항히스타민제나 스테로이드제 등이 많이 사용되고 있다. 그러나 이러한 약물은 그 효과가 일시적인 경우가 대부분이고 부작용이 심한 경우도 많다. 따라서, 알레르기 질환의 예방 및 치료효과를 가지면서 부작용이 적고 효과가 지속적인 새로운 치료제의 개발이 필요하다.

<12> 이에 본 발명자들은 알레르기 질환을 효과적으로 예방하거나 치료할 수 있는 조성물을 개발하던 중 생약제 추출물 중에서 항알레르기 활성이 우수한 소재를 선별하고, 상기 생약제의 혼합 추출물이 알레르기 질환을 예방 또는 치료하는 효과가 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

#### 【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<13> 따라서, 본 발명의 목적은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

<14> 또한, 본 발명의 다른 목적은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으

로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 기능성 식품 조성물을 제공하는 것이다.

### 【발명의 구성】

<15>      상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물을 제공한다.

<16>      또한, 본 발명은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물을 제공한다.

<17>      본 발명에서 "알레르기 질환"이란 인체의 어떤 물질에 대한 과민증, 즉 외부로부터 들어온 물질에 대한 신체 면역계의 과도한 반응을 일으켜서 유발되는 질환을 말한다. 바람직하게는, 외부로부터 들어온 물질에 의해 히스타민과 같은 매개 물질이 유리되어 질병이 유발되는 과민증을 말한다. 상기 알레르기 질환의 예로는 알레르기성 비염, 알레르기성 천식, 알레르기성 중이염, 아나필락틱 쇼크(anaphylatic shock) 및 알레르기성 피부질환 등이 포함될 수 있다. 특히, 상기 알레르기성 피부질환으로는 아토피 피부염, 건선, 접촉성 알레르기 피부염 및 두드러기 등이 포함될 수 있다.

<18>      본 발명자들은 알레르기 질환을 예방 또는 치료할 수 있는 조성물을 개발하

기 위하여 상업, 우방자, 오미자, 구기자, 계지, 산수유, 산사, 유근피, 흑임자, 어성초 및 복분자 추출물로 이루어진 11종의 생약재 추출물에 대해 항알레르기 활성을 분석하였다. 항알레르기 활성은 비만세포의 강력한 탈과립 유도물질로 알려진 compound 48/80을 흰쥐의 복강 비만세포에 처리한 후 상기 생약재 추출물이 compound 48/80에 의한 비만세포의 탈과립을 억제하는지 여부를 측정하였다. 실험 결과, 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상업 추출물의 5종의 생약재 추출물 compound 48/80에 의한 흰쥐 복강 비만세포의 탈과립을 억제하는 활성이 있음을 알 수 있었다(실험예 1 참조).

<19> 또한, 본 발명자들은 상기에서 항알레르기 활성을 가지고 있는 것으로 선별된 어성초 추출물, 복분자 추출물, 산수유 추출물, 산사 추출물 및 상업 추출물이 세포독성이 있는지 여부를 조사하였다. 그 결과, 상기 생약재 추출물은 모두 세포독성을 나타내지 않아 생체에 안전하게 사용할 수 있음을 확인할 수 있었다 (실험예 2 참조).

<20> 나아가, 본 발명자들은 상기 5종의 생약재 추출물 중에서 항알레르기 활성이 가장 우수한 어성초와 복분자를 선택하여 이들의 혼합 추출물을 제조하고, 상기 혼합물의 항알레르기 활성을 분석하였다.

<21> 본 발명의 일 실험예에서 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 흰쥐의 복강 비만세포에 전처리한 후 compound 48/80을 처리한 결과, 비만세포로부터 히스타민의 유리를 억제하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 상기 혼합물의 히

스타민 유리 억제 효과는 어성초 추출물 또는 복분자 추출물을 단독으로 사용한 경우에 비해 현저히 우수한 것으로 나타났다(실험예 3 참조). 이러한 효과는 상기 추출물들이 비만세포에서 세포 내 싸이클릭 AMP 수준을 증가시키고 세포 내로 칼슘 유입을 감소시켜 비만세포의 탈과립과 히스타민 유리를 억제하는 것으로 사료된다.

<22> 또한, 본 발명의 다른 실험예에서는 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 아나필락틱 쇼크 마우스 모델에 전처리 한 결과, 아나필락틱 쇼크로 인한 마우스의 사망을 억제하여 마우스가 100% 생존하는 매우 우수한 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 또한, 어성초와 복분자의 혼합 추출물은 아나필락틱 쇼크 마우스 모델의 장간막 비만세포의 탈과립을 효과적으로 억제하는 것으로 나타났다(실험예 4 참조).

<23> 또한, 본 발명의 다른 실험예에서는 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 피부 반응 유발 흰쥐 모델에 전처리 한 결과, compound 48/80에 의한 흰쥐의 피부반응을 감소시키고 혈관 투과성 증가를 효과적으로 억제함을 확인할 수 있었다(실험예 5 참조).

<24> 또한, 본 발명자들은 상기 어성초 추출물과 복분자 추출물 외에 항알레르기 활성이 있는 것으로 선별된 산수유, 산사 및 상엽을 추가로 혼합한 혼합 추출물의 항알레르기 활성을 조사하였다. 그 결과, 상기 혼합물이 흰쥐의 복강 비만세포에서 compound 48/80에 의한 히스타민의 유리를 억제하는 활성이 있음을 확인하였다(실험예 6 참조).

<25> 나아가, 본 발명의 일 실험예에서는 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 포함하는 캡슐 제제 또는 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물을

포함하는 캡슐 제제를 아토피성 피부염을 앓고 있는 환자에게 투여한 후 환자의 혈청 내 IgE 및 히스타민 농도를 측정하였으며, 병변을 임상적으로 관찰하였다. 그 결과, 본 발명의 제제가 종래에 사용되고 있는 스테로이드제 및 항히스타민제와 동일한 치료 효과가 있음을 확인할 수 있었다(실험예 7 참조).

<26> 따라서, 본 발명의 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 것을 특징으로 한다.

<27> 나아가, 본 발명의 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물은 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물 외에 산수유, 산사 및 상엽 추출물로 이루어진 그룹 중에서 선택된 어느 하나 이상을 추가로 포함하는 것을 특징으로 한다.

<28> 바람직하게는, 본 발명의 약학적 조성물은 상기 어성초와 복분자를 4:1~1:4의 중량비율로 혼합한 추출물을 함유하는 것을 특징으로 한다. 보다 바람직하게는, 상기 본 발명의 약학적 조성물은 어성초와 복분자를 1:1의 중량비율로 혼합한 추출물을 함유할 수 있다.

<29> 상기 어성초( *Houttuynia Cordata* )는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로 아시아 동남부에 많이 분포하는 여러해살이 약초이다. 어성초는 해열, 종기, 탈항을 치료하는 효과 있으며, 독을 없애고 중금속을 해독하는 작용이 있음이 알려져 있다.

<30> 상기 복분자( *Rubus coreanus* Miq.)는 장미과에 속하는 낙엽 활엽성 관목으로

중국이 원산지이며, 우리나라 제주도 및 남부지방, 중부지방과 일본, 미국, 유럽 등에 분포되어 있다. 한방에서는 복분자의 털 익은 열매, 즉 미성숙 과실이 사용된다. 복분자의 약리 효과로는 피로로 인한 간 손상을 보호하여 눈을 밝게 할 뿐만 아니라 이뇨제의 효능이 있고, 양기, 신기 부족으로 인한 유정, 정액부족, 발기부전 및 성기능을 높이고 속을 덥게 하며, 기운을 세게 하고, 발모를 촉진함과 동시에 머리가 희게 세는 것을 방지한다고 알려져 있다.

<31> 상기에서 산수유(*Cornus officinalis Sieb. et Zucc*)는 층층나무과에 속하는 낙엽 교목인 산수유 나무의 열매로 신장계통, 당뇨병, 고혈압, 관절염 및 부인병 등 각종 성인병에 효과가 있으며, 자양 작용, 수렴 작용, 항균 작용 및 항진균 작용이 있다. 산수유에는 모로니사이드, 로가닌, 소로사이드, 코르닌, 갈릭산, 주석산 및 사과산 등이 함유되어 있다.

<32> 상기에서 산사(*Crataegi Fructus*)는 장미과에 속하는 식물의 과실을 말하며,

<33> 아미그달린, 우르솔산, 글로로겐산, 레몬산, 포도주산, 플라보노이드 및 비타민C 등이 함유되어 있다. 산사의 약리작용으로는 심장, 혈관 등의 긴장도를 낮추고 강심작용이 있으며 혈액순환을 개선하는 효능이 있으며, 소화를 촉진하며 콜레스테롤 함량을 낮추는 효능이 있다.

<34> 상기에서 상엽은 뽕나무의 잎을 말하며, 보혈강장 효과가 있고(신농본초경) 당뇨, 신경통, 고혈압에 효과가 있으며 풍을 제거하고 열을 내리며 이명, 두통에 효과가 있다고 알려져 있다(중약대사전). 최근 일본의 연구에 따르면, 뽕잎에는 혈당치의 상승을 억제하고 당뇨를 예방하는 효과가 있다는 것이 밝혀졌다.



<35> 본 발명에서 상기 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽은 자연에서 채취하거나 또는 상업적으로 구입하여 사용할 수 있다. 또한, 본 발명의 조성물은 상기의 생약재를 혼합 한 후 함께 추출하거나 또는 상기 생약재를 각각 그 약효성분의 물리·화학적 성질에 따라 추출한 후 각각의 추출물을 혼합한 혼합물을 포함할 수 있다. 상기 본 발명의 생약재 추출물은 당업계에 공지된 용매 추출법에 의해 제조할 수 있다. 예를 들어, 물, 에탄올 및 메탄올과 같은 알코올, 아세톤, 에틸아세테이트, n-헥산, 메탄올, 디에틸에테르, 아세톤, 벤젠과 같은 유기용매 중에서 선택된 어느 하나 또는 이들의 혼합용매를 이용하여 추출할 수 있다. 상기 용매 추출법에 의해 추출물을 제조하는 경우에는 열수 추출, 초음파 추출 및 환류 추출 방법을 사용할 수 있다. 본 발명의 일 실시예에서는 상기 생약재에 정제수를 투여하여 일정시간 동안 가열 추출한 후 여과함으로써 열수 추출물을 제조하였다(실시예 1 참조). 또한, 본 발명의 다른 실시예에서는 상기 생약재에 70% 메탄올을 투여하여 일정시간 동안 추출한 후 여과함으로써 메탄올 추출물을 제조하고(실시예 2 참조), 상기 열수 추출물 및 메탄올 추출물의 compound 48/80에 의한 흰쥐 복강 비만 세포의 탈과립 억제 정도를 조사한 결과 큰 차이가 없는 것으로 나타났다(실험예 1 참조).

<36> 한편, 알레르기 질환의 예방 및 치료 효과를 가지는 본 발명의 약학적 조성물은 상기 생약재 추출물을 단독으로 포함하거나 또는 하나 이상의 약학적으로 허

용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 추가로 포함함으로써 통상적인 방법으로 제형화될 수 있다. 상기에서 "약학적으로 허용되는" 이란 생리학적으로 허용되고 인간에게 투여될 때, 통상적으로 위장 장애, 현기증과 같은 알레르기 반응 또는 이와 유사한 반응을 일으키지 않는 조성물을 말한다. 또한, 상기와 같이 제형화된 본 발명의 약학적 조성물은 적합한 투여 경로를 통해 알레르기 질환을 예방 또는 치료하기 위한 목적으로 투여될 수 있다. 적합한 투여 경로로는 경구, 점안, 경피, 피하, 정맥 또는 근육을 포함한 여러 경로가 포함될 수 있다.

<37> 본 발명의 약학적 조성물은 선택된 투여 경로에 따라 경구 투여용 또는 비경구 투여용 제제로 제형화 할 수 있다.

<38> 경구 투여용 제제의 경우에 본 발명의 약학적 조성물은 분말, 과립, 정제, 환제, 당의정제, 캡슐제, 액제, 겔제, 시럽제, 슬러리제, 현탁액 등으로 당업계에 공지된 방법을 이용하여 제형화할 수 있다. 예를 들어, 경구용 제제는 활성 성분을 고체 부형제와 배합한 다음 이를 분쇄하고 적합한 보조제를 첨가한 후 과립 혼합물로 가공함으로써 정제 또는 당의정제를 수득할 수 있다. 적합한 부형제의 예로는 락토즈, 텍스트로즈, 수크로즈, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨 및 말티톨 등을 포함하는 당류와 옥수수 전분, 밀 전분, 쌀 전분 및 감자 전분 등을 포함하는 전분류, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오즈 및 하이드록시프로필메틸-셀룰로즈 등을 포함하는 셀룰로즈류, 젤라틴, 폴리비닐피롤리돈 등과 같은 충전제가 포함될 수 있다. 또한, 경우에 따라 가교결합 폴리비닐피롤리돈, 한천, 알긴산 또는 나트륨 알기네이트 등을 붕해제로 첨가할 수 있다.

나아가, 상기 약학 조성물은 항응집제, 윤활제, 습윤제, 향료, 유화제 및 방부제 등을 추가로 포함할 수 있다.

<39> 비경구 투여용 제제의 경우에는 주사제, 크림제, 로션제, 외용연고제, 오일제, 보습제 및 비강 흡입제의 형태로 당업계에 공지된 방법으로 제형화할 수 있다. 예를 들어, 주사제의 경우 본 발명의 생약제 추출물을 헥스 용액, 링거 용액 또는 생리학적 염수 완충액과 같은 생리학적으로 적합한 완충액에 용해시킴으로써 제형화할 수 있다.

<40> 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여량은 약 1mg/체중kg/day~100mg/체중kg/day이며, 보다 바람직하게는 약 10mg/체중kg/day~30mg/체중kg/day이다. 그러나, 본 발명에 따른 약학적 조성물의 투여량은 투여 경로, 환자의 연령, 성별, 체중 및 환자의 중증도 등의 여러 인자에 따라 적절히 선택될 수 있다.

<41> 또한, 본 발명의 약학적 조성물은 알레르기 질환을 예방 또는 치료하는 효과를 가지는 면역증강제 또는 항히스타민제와 같은 공지의 화합물과 병행하여 투여할 수 있다.

<42> 또한, 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물은 알레르기 질환의 예방 또는 개선의 목적으로 식품 조성물의 형태로 제공될 수 있다. 또한, 상기 식품 조성물에는 산수유, 산사 및 상엽 추출물로 이루어진 그룹 중에서 선택된 어느 하나 이상을 추가로 포함할 수 있다. 본 발명에서 식품 조성물로는 기능성 식품(functional

food), 영양 보조제(nutritional supplement), 건강 식품(health food) 및 식품 첨가제(food additives) 등의 모든 형태를 포함한다. 상기 유형의 식품 조성물은 당 업계에 공지된 통상적인 방법에 따라 다양한 형태로 제조할 수 있다.

<43> 예를 들면, 건강 식품으로는 본 발명의 생약제 추출물 자체를 차, 주스 및 드링크의 형태로 제조하여 음용하도록 하거나, 과립화, 캡슐화 및 분말화하여 섭취할 수 있다.

<44> 또한, 기능성 식품으로는 음료(알콜성 음료 포함), 과일 및 그의 가공식품(예: 과일통조림, 병조림, 잼, 마말레이드 등), 어류, 육류 및 그 가공식품(예: 햄, 소시지 콘비이프 등), 빵류 및 면류(예: 우동, 메밀국수, 라면, 스파게이트, 마카로니 등), 과즙, 각종 드링크, 쿠키, 젓, 유제품(예: 버터, 치즈 등), 식용 식물유지, 마아가린, 식물성 단백질, 레토르트 식품, 냉동식품, 각종 조미료(예: 된장, 간장, 소스 등) 등에 본 발명의 생약제 추출물을 첨가하여 제조할 수 있다.

<45> 또한, 본 발명의 생약제 추출물을 식품 첨가제의 형태로 사용하기 위해서는 분말 또는 농축액 형태로 제조하여 사용할 수 있다.

<46> 본 발명의 식품 조성물 중 본 발명의 생약제 추출물의 바람직한 함유량으로는 조성물 총 중량을 기준으로 1~90중량%이다. 보다 바람직하게는, 조성물 총 중량을 기준으로 10~50중량%를 포함할 수 있다. 또한, 본 발명의 식품 조성물에 유효성분으로 포함되는 생약제 추출물은 어성초와 복분자가 4:1~1:4의 중량비율로 혼합된 것이 바람직하다.

<47>        이하, 본 발명의 구체적인 방법을 실시예를 들어 상세히 설명하고자 하지만  
본 발명의 권리범위는 이들 실시예에 만 한정되는 것은 아니다.

<48>        <실시예 1>

<49>        생약재의 열수 추출물 제조

<50>        항알레르기 활성을 가지는 생약재 추출물을 선별하기 위해 상엽, 우방자, 오  
미자, 구기자, 계지, 산수유, 산사, 유근피, 흑임자, 어성초 및 복분자의 열수 추  
출물을 각각 제조하였다. 상기 생약재는 모두 건조된 형태의 것을 국내 농협에서  
구입하여 사용하였다.

<51>        먼저, 상기 생약재를 깨끗이 세척하여 일정한 크기(1 ×1 ×1cm 이하)로 자  
른 후 상기 각각의 생약재 300g에 정제수 3ℓ를 넣고 100℃에서 4시간 동안 가압  
추출하였다. 추출이 완료된 후 100mesh의 여과막을 이용하여 추출물을 여과하여  
여과액을 수득하고 이를 회전 농축기(rotary vacuum evaporator; EYELA, Tokyo  
Rikakikai Co. Ltd.)를 사용하여 25brix로 농축하였다. 상기 농축물을 진공 건조  
한 다음 80mesh로 분쇄하였다. 상기 건조 분말을 생리식염수(saline)에 다양한 농  
도로 희석하여 실험에 사용하였다.

<52> <실시에 2>

<53> 생약재의 메탄올 추출물 제조

<54> 상엽, 우방자, 오미자, 구기자, 계지, 산수유, 산사, 유근피, 흑임자, 어성초 및 복분자를 깨끗이 세척하여 일정한 크기( $1 \times 1 \times 1\text{cm}$  이하)로 자른 후 각각의 생약재 200~600g에 70% 메탄올 5ℓ를 투여하여 50℃에서 72시간 동안 추출하였다. 추출이 완료된 후 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 여과 및 진공 건조하여 메탄올 추출물을 수득하였다.

<55> <실험예 1>

<56> 항알레르기 활성을 가지는 생약재 추출물의 선별

<57> 상기 실시예 1 및 실시예 2에서 제조한 상엽, 우방자, 오미자, 구기자, 계지, 산수유, 산사, 유근피, 흑임자, 어성초 및 복분자의 열수 추출물 및 메탄올 추출물의 항알레르기 활성을 조사하였다.

<58> 이를 위해 흰쥐 복강에서 비만세포를 수확하고 여기에 상기 생약재 추출물 및 히스타민 유리 유도 물질인 compound 48/80을 처리하여 비만세포의 형태 및 비만세포로부터 유리되는 히스타민 양을 측정하였다.

<59> 1-1) 흰쥐 복강으로부터 비만세포의 수확

<60> 당업계의 공지된 방법을 수정 및 보완하여 다음과 같은 방법으로 비만세포를 수확하였다(Cochrane DE and Douglas WW, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 408, 1974). 체중 250~300g 내외의 건강하고 성숙한 SD계(Sprague-Dawley) 수컷 흰쥐를 에테르로 마취시키고 뒤통수를 강타하여 치사시킨 후 약 10ml의 HEPES-Tyrode 완충용액을 흰쥐의 복강내에 주입하고 90초간 복벽을 가볍게 마사지하였다. 복벽 중앙선을 절개하고 복강 세척액을 스포이드로 채취하여 200×g로 10분간 원심시킨 후 상층 부유액을 버리고, 동일 HEPES-Tyrode 완충용액으로 비만세포 수가  $1 \times 10^6$  cells/ml 되도록 재부유시켰다. 비만세포의 형태 관찰은 이 비만세포 부유액을 사용하였다. 복강 비만세포 부유액으로부터 비만세포의 순수분리는 공지된 방법을 이용하여 다음과 같이 분리하였다(Hachisuka *et al.*, *Arch. Dermatol. Res.*, 280:358, 1988). 15ml 원심분리용 시험관에 이소토닉 퍼콜 용액(isotonic percoll, 10×Hank's 용액 1ml + 퍼콜 9ml) 3.5ml을 첨가한 후 재부유된 비만세포 부유액 0.75ml을 조심스럽게 올려놓고 HEPES-Tyrode 완충용액 0.5ml을 상층에 채운 다음, 10분 정도 정치시킨 후 125×g로 15분간 원심시켰다. 원심 후 상층액 2ml을 피펫으로 제거하고 4℃의 HEPES-Tyrode 완충용액으로 2번 세척하여 순수 비만세포 부유액을 제조하였다. 트립판 블루(Trypan blue)와 기무라 염색(Kimura stain) 용액을 이용하여 비만세포의 생존률과 순수도를 확인하고, 생존률과 순수도가 90% 이상인 경우에만 실험에 사용하였다.

<61> 1-2) 생약재 추출물의 처리에 따른 흰쥐 복강 비만세포의 형태 관찰

<62> 상기 실험에 1-1)에서 수득한 복강 비만세포 부유액 200 $\mu$ l에 HEPES-Tyrode 완충용액 25 $\mu$ l와 함께 상기 실시예 1 및 실시예 2의 상업, 우방자, 오미자, 구기자, 계지, 산수유, 산사, 유근피, 흑임자, 어성초 및 복분자의 열수 추출물 또는 메탄올 추출물 25 $\mu$ l를 각각 처리하고 37℃ 항온조에서 30분간 반응시켰다. 또한, 상기 생약재 추출물이 compound 48/80에 의한 비만세포의 탈과립을 억제하는 활성이 있는지를 확인하기 위해서는 상기 생약재의 열수 추출물 또는 메탄올 추출물 25 $\mu$ l를 비만세포 부유액에 첨가하여 37℃ 항온조에서 10분 동안 반응시킨 후 compound 48/80 25 $\mu$ l을 첨가한 다음 37℃ 항온조에서 20분 동안 반응시켰다.

<63> 상기 실험군과의 비교를 위해 양성 대조군으로 상기 비만세포 부유액 200 $\mu$ l에 HEPES-Tyrode 완충용액 25 $\mu$ l와 히스타민 유리 유도 물질인 compound 48/80(5 $\mu$ g/ml) 25 $\mu$ l를 처리하고 37℃ 항온조에서 30분간 반응시켰으며, 상기 비만세포에 아무런 처리를 하지 않은 경우를 음성대조군으로 하였다.

<64> 상기에서 반응이 완료된 비만세포 배양액 200 $\mu$ l를 도립 현미경 채물대 위에 놓여진 슬라이드 글라스(slide glass, 22 ×60mm) 위에 떨어뜨린 다음 비만세포들이 침전될 수 있도록 실온에서 10분간 정치시켰다. 그 다음 1,000배의 배율 하에서 비만세포를 관찰하였다.

<65> 일반적으로 정상 비만세포의 형태는 대부분 원형 또는 난원형으로 세포윤곽



이 뚜렷하고 세포질 내에는 많은 과립들이 충만 되어 있다. 비만세포의 직경은 대략  $10\sim20\mu\text{m}$  정도로 복강 부유액의 다른 세포들(림프구 또는 호중성 백혈구)에 비해 2배 이상 크다. 따라서, 비만세포의 형태가 원형 또는 난원형으로 세포윤곽이 뚜렷하고 세포질 내에 광굴절율이 높은 과립들로 충만된 상태를 정상형 비만세포로 구분하였다. 반면에 세포윤곽이 불분명하고 세포질 내 과립들이 세포표면으로 돌출 되거나 세포주위에 흩어져 있는 경우를 탈과립형으로 구분하였다.

<66> 실험 결과, 아무런 처리를 하지 않은 음성 대조군의 경우에는 비만세포 크기가 부유액 내의 림프구의 두 배 정도이며, 구형 또는 난원형임을 확인할 수 있었다. 또한, 상기 비만세포의 세포막이 뚜렷하고 세포질에는 광굴절율이 강한 과립들로 채워져 있어 핵이 분명하게 관찰되지 않은 정상 비만세포의 소견을 보여주었다(도 1의 A).

<67> compound 48/80 용액을 처리한 양성 대조군의 경우에는 수 분 이내에 세포질 내 과립들의 광굴절율이 약해지고 세포가 점차 팽대되어 세포막이 불규칙하게 뒨과 동시에 광굴절율이 약화된 과립들이 세포 표면으로 돌출되는 탈과립 현상을 관찰할 수 있었다(도 1의 B).

<68> 생약재의 열수 추출물만을 비만세포 배양액에 첨가한 경우에는 비만세포의 형태, 크기, 표면윤곽 등이 정상 비만세포와 별 다른 소견을 보이지 않았으며, 첨가 후 30분 동안 다른 변화를 관찰할 수 없었다(도 1의 C).

<69> 한편, 비만세포 배양액에 어성초, 복분자, 산사, 산수유 및 상엽의 열수 추

출물을 처리한 후 compound 48/80 용액을 첨가한 경우에는 비만세포의 탈과립이 억제되어 형태, 크기, 표면윤곽 등에서 정상 세포와 동일한 것으로 나타났다(도 1의 D). 또한, 상기 어성초, 복분자, 산사, 산수유 및 상엽의 메탄올 추출물을 처리한 경우에도 비만세포의 탈과립이 억제됨을 확인할 수 있었다(결과 미도시). 반면, 우방자, 오미자, 구기자, 계지, 유근피, 흑임자의 열수 추출물 또는 메탄올 추출물을 처리한 후 compound 48/80 용액을 첨가한 경우에는 비만세포의 탈과립이 억제되지 않았다(표 1).

<70> 상기 실험 결과로부터, 어성초, 복분자, 산사, 산수유 및 상엽의 열수 추출물 또는 메탄올 추출물은 비만세포의 형태에 영향을 주지 않으나, compound 48/80에 의한 비만세포의 탈과립을 억제하며, 비만세포의 형태를 정상 비만세포의 형태로 유지하게 하는 것을 알 수 있었다.

# 【표 1】

<71> 생약재의 열수 추출물 또는 메탄올 추출물의 처리에 따른 compound 48/80에 의한 비만세포의 탈과립 억제 여부

생약재의 종류	비만세포의 탈과립	
	열수 추출물	메탄올 추출물
상엽	-	-
우방자	+	+
오미자	+	+
구기자	+	+
계지	+	+
산수유	-	-
산사	-	-
유근피	+	+
흑임자	+	+
어성초	-	-
복분자	-	-

<72> +: 비만세포의 탈과립이 관찰됨

<73> -: 비만세포의 탈과립이 관찰되지 않음

<74> <실험에 2>

<75> 어성초 추출물, 복분자 추출물, 산수유 추출물, 산사 추출물 및 상엽 추출물의 세포 독성

<76> 상기 실험에 1-2)에서 항알레르기 활성이 있는 것으로 선별된 어성초 추출물, 복분자 추출물, 산수유 추출물, 산사 추출물 및 상엽 추출물의 세포 독성을 조사하였다.

<77> 상기 실험에 1-1)에서 수득한 비만세포를 비롯한 다른 세포들이 들어 있는 현취 복강 부유액  $225\mu\text{l}$  (세포수;  $7 \times 10^5$  cells/ $0.225\text{ml}$ )에 각각의 농도가  $100\text{mg/ml}$  인 어성초, 복분자, 산수유, 산사, 상엽 추출물을 각각  $25\mu\text{l}$ 씩 첨가한 다음  $37^\circ\text{C}$ 에서 2시간 동안 반응시켜 세포 생존율(viability)을 조사하였다. 대조군은 추출물 대신 완충용액을 처리하였다. 상기 반응액을 원심분리기를 이용하여  $4^\circ\text{C}$ 에서  $400 \times g$ 로 원침하여 상층액을 버리고 남은 세포들에 MTT( $1\text{mg/ml}$ , 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, Sigma-Aldrich)를  $50\mu\text{l}$ 첨가하여  $37^\circ\text{C}$ 에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 후 DMSO(Dimethyl Sulfoxide,  $\text{C}_2\text{H}_6\text{SO}$ ,

Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ l를 첨가한 다음 분광측광기(spectrophotometer)로 570nm에서 광학밀도(optical density; O.D.)를 측정하여 세포 생존율을 산출하였다.

<78> 세포생존율(Viability; %) = (추출물 실험군의 광학밀도/대조군의 광학밀도)  
 $\times 100$

<79> 실험 결과, 어성초 추출물, 복분자 추출물, 산수유 추출물, 산사 추출물 및 상엽 추출물은 세포 독성을 전혀 나타내지 않았다(도 2).

<80> <실시예 3>

<81> 어성초와 복분자의 혼합 추출물 제조

<82> 상기 실시예 1에서 선별된 어성초 및 복분자를 1:1의 중량비율로 혼합하여 혼합 추출물을 다음과 같이 제조하였다. 건조된 어성초와 복분자를 깨끗이 세척하여 일정한 크기(1  $\times$  1  $\times$  1cm 이하)로 자른 후 각각 150g씩 혼합하였다. 상기에서 혼합한 생약재 300g에 정제수 3 l를 넣고 100 $^{\circ}$ C에서 4시간 동안 가압 추출하였다.

<83> <실시예 3>

<84> 어성초와 복분자의 혼합 추출물의 비만세포로부터 히스타민 유리 억제 효과 조사

<85>     상기 실시예 3에서 제조한 어성초와 복분자의 혼합 추출물이 compound 48/80에 의해 복강 비만세포로부터 유리되는 히스타민을 억제하는 효과가 있는지를 조사하였다. 히스타민 억제효과는 상기 실험예 1-1)에서 수득한 흰쥐 복강 비만세포를 사용하여 측정하였다. 먼저, 정상 비만세포로부터 유리되는 히스타민의 양을 측정하기 위해 상기 복강 비만세포 200 $\mu$ l에 생리 식염수 50 $\mu$ l를 처리하였다. 또한, compound 48/80에 의해 유리되는 히스타민 양을 측정하기 위해 상기 복강 비만세포에 생리식염수 25 $\mu$ l를 첨가한 다음 10분이 경과한 후 compound 48/80 용액(5 $\mu$ g/ml) 25 $\mu$ l를 첨가하였다. 상기 어성초 추출물, 복분자 추출물 및 어성초와 복분자의 혼합 추출물 자체가 비만세포로부터 히스타민을 유리시키는지 조사하기 위해 각각 1mg/ml 농도의 상기 추출물을 25 $\mu$ l씩 첨가하고(최종처리농도 0.1mg/ml가 되도록 함) 10분이 경과된 후 생리식염수 25 $\mu$ l를 첨가하였다. 또한, 상기 생약재 추출물이 compound 48/80에 의한 비만세포로부터 히스타민의 유리를 억제하는지를 조사하기 위해 상기 생약재 추출물을 상기와 동일한 방법으로 각각 비만세포에 처리한 후 10분이 경과한 후 compound 48/80 용액(5 $\mu$ g/ml) 25 $\mu$ l를 첨가하였다.

<86>     상기에서 반응이 완료된 반응액을 원심분리기로 4℃에서 400×g로 원침하여 상층액을 수득한 다음 공지의 방법을 변형하여 비만세포로부터 유리된 히스타민의 양을 측정하였다(Harvima *et al.*, *Clinica Chimica Acta*. 171:247, 1988). 즉, 상

기에서 수득한 상층액 10 $\mu$ l와 S-아데노실(메틸-<sup>14</sup>C) 메치오닌(S-adenosyl(methyl-<sup>14</sup>C) methionine, 2  $\mu$ Ci/ml) 1.5 $\mu$ l, 300mM 트리스-글리신 완충액(Tris-glycin buffer, pH 8.3) 40 $\mu$ l, 히스타민 N-메틸 트랜스퍼라제(histamine N-methyl transferase) 5 $\mu$ l를 37 $^{\circ}$ C 항온조에서 90분간 반응시킨 후 3N 과염소산(perchloric acid) 20 $\mu$ l를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 상기 과염소산을 중화시키기 위하여 10N NaOH 20 $\mu$ l를 첨가하고, 톨루엔-이소아밀 알코올(toluene-isoamyl alcohol) 1ml를 첨가하여 추출함으로써 상층액 700 $\mu$ l를 수득하였다. 상기 상층액에 콕테일 용액(Cocktail solution; ULTIMA GOLD<sup>TM</sup>, Packard Bioscience Company, USA) 3ml를 첨가하였다. 그 다음  $\beta$ -카운터( $\beta$ -counter, Liquid scintillation Analyzer, Acanberra company, Australia)를 사용하여 cpm(count per minute) 값을 측정한 후 히스타민 표준곡선에 준하여 히스타민 양을 산출하였다. 히스타민 양은 히스타민 총량에 대한 백분율로 표시하였다. 히스타민 총량은 상기 복강 비만세포 200 $\mu$ l에 생리 식염수 50 $\mu$ l을 처리한 비만세포 부유액 250 $\mu$ l를 100 $^{\circ}$ C로 10분간 가열한 다음 원침 시킨 후 상층액으로부터 측정된 히스타민 양을 100으로 정한다. 히스타민 유리율은 하기식에 의해 계산하였다.

<87> 히스타민 유리율(histamine release %) = (실험군 히스타민 유리량/총 히스타민 유리량)  $\times$  100

<88>       상기에서 산출한 히스타민의 양으로부터 하기 식에 의해 생약제 추출물의 비만세포로부터 유리되는 히스타민의 유리 억제율을 산출하였다.

<89>       히스타민 유리 억제율 (inhibition of histamine release %) = [ 1 - (생약제 추출물과 compound 48/80의 혼합 처리에 의한 히스타민 유리량 - 생약제 추출물 처리에 의한 히스타민 유리량) / (compound 48/80 처리에 의한 히스타민 유리량 - 생리 식염수 처리에 의한 히스타민 유리량 ) } ] × 100

<90>       실험 결과, 순수한 비만세포 부유액에 생리 식염수만을 첨가한 경우의 히스타민 유리율은 2.7%이었다. 상기 비만세포에 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 열수 추출물만을 처리한 경우의 히스타민 유리율은 생리 식염수만을 처리한 경우와 유사한 것으로 나타났다. 반면, 비만세포에 compound 48/80만을 처리한 경우의 히스타민 유리율은 60.2%로 매우 높게 나타났다. 또한, 상기 생약제 열수 추출물을 전처리한 후 compound 48/80을 처리한 경우에는 compound 48/80에 의한 비만세포로부터 히스타민의 유리정도가 억제되는 것을 확인할 수 있었다.

<91>       즉, 비만세포에 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 처리한 후 compound 48/80을 처리한 경우의 히스타민 유리율이  $9.4 \pm 1.6\%$ 로 나타났으며, 히스타민 유리 억제율은 88%로 나타났다. 반면, 어성초 추출물을 단독으로 처리한 후 compound 48/80을 처리한 경우의 히스타민 유리율은  $41.0 \pm 2.1\%$ 로 나타났으며, 히스타민 유리 억제율은 33%로 나타났다. 복분자 추출물을 단독으로 처리한 후 compound 48/80을

처리한 경우의 히스타민 유리율은  $37.4 \pm 3.2\%$ 로 나타났으며, 히스타민 유리 억제율은 39%로 나타났다(표 2).

<92> 상기 실험 결과로부터, 어성초와 복분자의 혼합 추출물이 어성초 추출물 및 복분자 추출물을 단독으로 처리한 경우에 비해 compound 48/80에 의한 비만세포의 히스타민 유리를 억제하는 효과가 우수하다는 사실을 확인할 수 있었다.

## 【표 2】

<93> 어성초와 복분자의 혼합 추출물의 처리에 따른 compound 48/80에 의한 비만세포의 히스타민 유리 억제

추출물 종류	compound 48/80	히스타민 유리율(%)	히스타민 유리 억제율(%)
생리 식염수	-	$2.7 \pm 0.3^{1)}$	
	+	$60.2 \pm 3.2$	
어성초	-	$2.5 \pm 0.2$	
	+	$41.0 \pm 2.1$	33
복분자	-	$2.4 \pm 0.4$	
	+	$37.4 \pm 3.2$	39
어성초와 복분자의 혼합 추출물	-	$3.9 \pm 0.3$	
	+	$9.4 \pm 1.6$	88

<94> 1) 각 수치는 평균±표준오차(n=10)를 의미함.

<95> <실험예 4>

<96> 아나필락틱 쇼크 마우스 모델을 이용한 어성초와 복분자의 혼합 추출물의 항알레르기 활성 조사



<97> 본 발명에 따른 어성초와 복분자의 혼합 추출물의 항알레르기 활성을 과민성 쇼크 마우스 모델을 이용하여 조사하였다. 아나필락틱 쇼크 마우스 모델은 ICR계 마우스에 compound 48/80을 복강 내로 투여하여 아나필락틱 쇼크를 유발시킨 것이다. 본 실험예에서는 상기 아나필락틱 쇼크 모델에서 본 발명의 어성초와 복분자의 혼합 추출물의 처리가 마우스의 사망률 및 마우스의 장간막 비만세포의 탈과립 현상에 미치는 영향을 조사하였다.

<98> 4-1) 어성초와 복분자의 혼합 추출물이 아나필락틱 쇼크에 의한 마우스의 사망률에 미치는 영향 조사

<99> compound 48/80을 이용하여 공지의 방법으로 마우스에 아나필락틱 쇼크를 유발하였다(전병득 등, *대한 BRM학회지*, 2, 169, 1992). 체중 20~30g 정도의 건강한 ICR계 마우스를 선별한 다음 compound 48/80의 양이 마우스 체중 g당 15 $\mu$ g이 되도록 복강 내로 1회 투여하였다. 대조군으로는 compound 48/80 대신 생리 식염수를 주사하였다. 상기 마우스에 10mg/ml 또는 1mg/ml 농도의 어성초 추출물, 복분자 추출물, 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 compound 48/80을 투여하기 24시간, 12시간 및 1시간 전에 각각 3차례에 걸쳐 300 $\mu$ l씩 복강 내에 투여하였다. 또한, 상기 추출물을 전처리 하지 않고 compound 48/80 만을 투여한 후 마우스가 사망하기까지 최소 3일간 관찰하였다. 어성초 추출물, 복분자 추출물, 어성초와 복분자

의 혼합 추출물 및 compound 48/80에 의한 마우스의 사망률은 아나필락틱 쇼크로 사망한 마우스를 실험에 이용된 총 마우스의 마리수로 나누어 산출하였다. 또한, 사망률과 더불어 compound 48/80을 주입한 후 아나필락틱 쇼크로 사망할 때까지 소요되는 평균시간(분)을 측정하였다.

<100> 실험 결과, compound 48/80을 투여하지 않고 생리 식염수만 투여한 경우의 마우스는 모두 생존하였다. 또한, compound 48/80과 함께 생리 식염수를 투여한 경우의 마우스는 모두 사망(사망률 100%)하였으며, 사망하기까지 소요되는 평균 사망시간이 17.8분이었다.

<101> 마우스에 compound 48/80을 투여하기 전에 어성초 추출물을 투여한 경우에는 사망률이 각각 30%(어성초 추출물 농도 10mg/ml) 또는 70%(어성초 추출물 농도 1mg/ml)이었고, 사망까지 소요되는 시간은 각각 평균 57.4분(어성초 추출물 농도 10mg/ml) 또는 42.3분(어성초 추출물 농도 1mg/ml)이었다.

<102> 또한, 마우스에 compound 48/80을 투여하기 전에 복분자 추출물을 투여한 경우에는 마우스의 사망률은 각각 30%(복분자 추출물 농도 10mg/ml) 또는 80%(복분자 추출물 농도 1mg/ml)이었고, 사망까지 소요되는 시간은 각각 평균 53.4분(복분자 추출물 농도 10mg/ml) 또는 39.8분(복분자 추출물 농도 1mg/ml)이었다.

<103> 한편, 마우스에 compound 48/80을 투여하기 전에 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 투여한 경우의 마우스의 사망률은 각각 0%(모두 생존함, 혼합 추출물의 농도 10mg/ml) 또는 10%이었고(혼합 추출물의 농도 1mg/ml), 사망까지 소요되는 시간

은 65.5분이었다(표 3).

<104>      상기 실험 결과로부터 어성초 추출물 또는 복분자 추출물을 단독으로 사용하더라도 compound 48/80에 의해 유도되는 아나필락틱 쇼크로 인한 마우스의 사망을 억제할 수 있으나, 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 사용하는 경우 마우스의 사망을 보다 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었다. 또한, 추출물의 처리 농도가 높을수록 compound 48/80에 의해 유도되는 아나필락틱 쇼크로 인한 마우스의 사망을 억제하는 효과가 더 우수함을 알 수 있었다.

【표 3】

<105>      어성초와 복분자의 혼합 추출물의 아나필락틱 쇼크에 의한 마우스의 사망률 억제

처리(mg/ml)		compound 48/80	사망한 개체수/실험에 사용한 개체수	사망률(%)	평균사망시간 (분)
생리 식염수		-	0 / 10	0	-
생리 식염수		+	10 / 10	100	17.8
어성초 추출물	10	+	3 / 10	30	57.4
	1	+	7 / 10	70	42.3
복분자 추출물	10	+	3 / 10	30	53.4
	1	+	8 / 10	80	39.8
어성초와 복분자의 혼합 추출물	10	+	0 / 10	0	-
	1	+	1 / 10	10	65.5

<106>      +: 처리함, -: 처리하지 않음

<107>      4-2) 어성초와 복분자의 혼합 추출물이 아나필락틱 쇼크에 의한 마우스의 장관막 비만세포의 탈과립에 미치는 영향 조사

<108>      상기 실험에 4-1)과 동일한 방법으로 compound 48/80 만을 마우스의 복강 내로 주입하거나, 어성초 추출물, 복분자 추출물 또는 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 각각 3차례에 걸쳐 전처리한 다음 compound 48/80을 투여한 15분 후에 경추 탈구법으로 마우스를 희생시켰다.

<109>      희생시킨 마우스의 복벽 중앙선을 소절개하여 메탄올을 직접 복강 내로 주입하여 20분 동안 고정한 후 고정된 장간막을 얻어 슬라이드 위에 올려놓고 수세한 다음 0.1% 톨루딘 블루(toluidine blue, pH 4.0)로 1분간 염색하고 수세한 다음 탈수하여 봉입하고 각 개체마다 2개의 슬라이드를 만들었다. 400배의 광학 현미경하에서 비만세포의 탈과립 현상을 관찰하고 정상형(normal)과 정도 탈과립형(moderated degranulation) 및 강도 탈과립형(severe degranulation)으로 구분하여 그 수를 세어 비만세포의 탈과립 지수를 산출하였다. 이때, 탈과립되지 않은 비만세포를 정상형 비만세포, 약간의 과립들이 비만세포 주위에 있는 정도를 정도 탈과립형, 많은 과립들이 비만세포 주위에 산재된 것을 강도 탈과립형으로 구분하여 1개의 절편당 비만세포의 수를 임의로 10시야씩 2번을 세어 평균하였다. 개인적 오차를 줄이기 위하여 동일 표본에 대하여 두 사람의 관찰소견을 종합하여 평균을 산출하였다. 탈과립 지수와 탈과립 지수의 억제율은 다음 공식에 의하여 산출되었다.

<110>      탈과립 지수(degranulation index, %) =  $\frac{[(\text{정상형 비만세포의 수} \times 0) + (\text{정도 탈과립형 비만세포의 수} \times 50) + (\text{강도 탈과립형 비만세포의 수} \times 100)]}{\text{비만세포의 총 수}}$

<111> 탈과립 억제율(inhibition of degranulation, %) = [1-(어성초, 복분자, 혼합추출물 + compound 48/80에 의한 탈과립 지수 / compound 48/80에 의한 탈과립 지수)]  
×100

<112> 실험 결과, 생리 식염수 만을 투여한 대조군의 비만세포 탈과립 지수는 6.3이었고, compound 48/80만을 마우스에 투여한 군의 비만세포 탈과립 지수는 92.7이었다.

<113> 마우스에 compound 48/80을 투여하기 전에 어성초 추출물을 투여한 경우의 비만세포 탈과립 지수는 각각 42.0(어성초 추출물의 농도 10mg/ml), 82.1(어성초 추출물의 농도 1mg/ml)이었고, 이때 비만세포 탈과립 억제율은 각각 54.6%(어성초 추출물의 농도 10mg/ml) 및 11.4%(어성초 추출물의 농도 1mg/ml)로 나타났다.

<114> 마우스에 compound 48/80을 투여하기 전에 복분자 추출물을 투여한 경우의 비만세포 탈과립 지수는 각각 42.7(복분자 추출물의 농도 10mg/ml), 80.6(복분자 추출물의 농도 10mg/ml)이었고, 비만세포 탈과립 억제율은 각각 53.9% 및 13%이었다.

<115> 또한, 마우스에 compound 48/80을 투여하기 전에 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 투여한 경우의 비만세포 탈과립 지수는 각각 9.1(혼합 추출물의 농도 10mg/ml) 및 27.2(혼합 추출물의 농도 1mg/ml)이었고, 이때 비만세포 탈과립 억제율은 각각 90.1% 및 70.6%이었다(표 4).

<116>      상기 실험 결과로부터 어성초 추출물 또는 복분자 추출물을 단독으로 사용하더라도 compound 48/80에 의해 유도되는 비만세포의 탈과립을 억제할 수 있으나, 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 사용하는 경우 보다 효과적으로 비만세포의 탈과립을 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

【표 4】

<117>    어성초와 복분자의 혼합 추출물의 마우스 장간막 비만세포의 탈과립 억제 효과

처리(mg/ml)		compound 48/80	비만세포의 형태 (%)			탈과립 지 수	탈과립 억 제율 (%)
			정상형	경도 탈과립형	강도 탈과립 형		
생리 식염수		-	88.9±1.6 <sup>1)</sup>	9.6±2.6	1.5±1.2	6.3	-
		+	2.4±0.8	9.9±1.4	87.7±4.8	92.7	-
어성초 추출물	10	+	40.4±3.3	35.1±3.7	24.5±2.9	42.0	54.6
	1	+	8.8±1.9	16.3±3.3	73.9±2.9	82.1	11.4
복분자 추출물	10	+	39.4±5.3	39.8±4.0	22.8±2.6	42.7	53.9
	1	+	9.3±4.6	20.3±4.2	70.4±3.2	80.6	13.0
어성초와 복분자 의 혼합 추출물	10	+	84.9±2.3	11.9±2.0	3.2±1.5	9.1	90.1
	1	+	60.4±5.3	24.8±4.0	14.8±3.6	27.2	70.6

<118>    +:처리함, -: 처리하지 않음

<119>    1) 각 수치는 평균±표준오차(n=10)를 의미함.

<120>      <실험예 5>

<121>    피부반응 유발 흰쥐 모델을 이용한 어성초와 복분자의 혼합 추출물의 항알레르기  
활성 조사

<122> 체중 250~300g 내외의 건강하고 성숙한 SD(Sprague-Dawley)계 흰쥐의 진피 내로 compound 48/80을 투여하여 피부반응을 일으킨 다음 본 발명의 어성초와 복분자의 혼합 추출물이 상기 피부반응을 억제하며, 피부의 혈관투과성을 억제하는지 여부를 조사하였다.

<123> 흰쥐의 피부반응 유발실험은 공지된 방법을 수정 및 보완하여 다음과 같이 실시하였다(전병득 등, *대한 BRM 학회지*, 2, 169, 1992). 수컷 흰쥐의 등쪽 털을 제거한 다음 에테르 마취 하에서 등쪽 피부의 진피 내로 0.9% 생리 식염수, 10mg/ml 농도의 어성초 추출물, 복분자 추출물 및 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 각각 50 $\mu$ l씩 주사한 다음 10분이 경과한 후 5 $\mu$ g/ml 농도의 compound 48/80 50 $\mu$ l를 주사하였다. 대조군으로는 상기 compound 48/80 용액 대신 생리 식염수 50 $\mu$ l를 주사하였다. 상기 compound 48/80을 주사한지 20분이 경과한 다음 0.5% 에반스 블루 용액(Evan's blue) 400 $\mu$ l를 흰쥐의 음경 등쪽 정맥 내로 주입하였다. 피부반응 유발 여부와 양성 반응 판정은 에반스 블루 용액을 주입하고 30분이 경과한 뒤 등쪽 피부를 절개하여 진피 쪽에서 파란색 반점이 나타나는지의 여부를 관찰하였다. 그리고, 파란색 반점이 나타난 부위의 피부를 절취하여 그 무게를 측정하고, 가로 세로 약 3~4mm 정도의 작은 조각으로 세절하여 2ml의 포름아미드(Formamide) 용액에 넣고 80℃ 오븐에서 3시간 반응시켜 에반스 블루 용액을 유출시켰다. 유출시킨 에반스 블루 용액의 밀도(density)를 분광광도계(spectrophotometer, spectra MAX plus, Molecular Devices, USA)를 이용하여 620nm에서 측정한 후 에반스 블루 표준

곡선에 준하여 에반스 블루의 농도를 산출하였다. 또한, 상기 산출된 에반스 블루 농도를 기초로 하여 혈관투과성 억제율을 하기 식에 의해 산출하였다.

<124> 혈관투과성 억제율(inhibition %)= $[1-\{\text{생약제 추출물과 compound 48/80을 투여한 경우의 에반스 블루 농도}-\text{생약제 추출물을 투여한 경우의 에반스 블루 농도}\}/(\text{compound 48/80만을 투여한 경우의 에반스 블루 농도}-\text{생리 식염수만을 투여한 경우의 에반스 블루 농도})]\times 100$

<125> 실험 결과, 생리 식염수만을 투여한 대조군에서는 피부에 파란색 반점이 나타나지 않았으나, compound 48/80만을 투여한 군에서는 파란색 반점이 나타나 피부 반응이 유발됨을 확인할 수 있었다. 또한, 어성초 추출물, 복분자 추출물 및 어성초와 복분자의 혼합 추출물만을 투여한 경우에는 파란색 반점이 나타나지 않았다. 따라서, 생리 식염수와 상기 추출물 자체로는 흰쥐에서 피부반응을 유발시키지 않음을 알 수 있었으며, compound 48/80은 흰쥐의 피부반응을 유발시키는 것을 알 수 있었다. 한편, 어성초 추출물, 복분자 추출물 및 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 각각 투여한 후 compound 48/80을 투여한 경우에는 동일한 농도의 compound 48/80만을 투여한 경우에 비해 피부의 파란색 반점이 감소함을 알 수 있었다.

<126> 상기 피부반응이 유발된 자리에서 피부의 혈관투과성 정도를 정량 분석한 결과, compound 48/80만을 투여한 경우 에반스 블루 농도가  $36.7\pm 2.7\mu\text{g/g}$ 로 나타났다. 어성초 추출물을 투여한 후 compound 48/80을 투여한 경우의 에반스 블루 농



도는  $25.8 \pm 1.7 \mu\text{g/g}$ 이었고, compound 48/80에 의한 혈관투과성을 37% 억제한 것으로 나타났다. 복분자 추출물을 투여한 후 compound 48/80을 투여한 경우의 에반스 블루 농도는  $23.3 \pm 1.5 \mu\text{g/g}$ 이었고, compound 48/80에 의한 혈관투과성을 45% 억제하는 것으로 나타났다. 또한, 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 투여한 후 compound 48/80을 투여한 경우의 에반스 블루 농도는  $8.7 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$ 으로 compound 48/80에 의한 혈관투과성을 93% 억제하는 것으로 나타났다(표 5).

<127>      상기 실험 결과로부터 어성초 추출물 또는 복분자 추출물을 단독으로 사용하더라도 compound 48/80에 의한 피부반응 및 혈관투과성의 증가를 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었으며, 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 사용하는 경우에 보다 현저하게 compound 48/80에 의한 피부반응 및 혈관투과성의 증가를 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

# 【표 5】

<128>      어성초와 복분자의 혼합 추출물의 피부반응 및 혈관투과성 억제효과

처리	compound 48/80	에반스 블루 농도( $\mu\text{g/g}$ )	혈관투과성 억제율 (%)
생리 식염수	-	$6.4 \pm 0.8^{1)}$	
생리 식염수	+	$36.7 \pm 2.7$	
어성초 추출물	-	$6.8 \pm 0.7$	
	+	$25.8 \pm 1.7$	37
복분자 추출물	-	$6.6 \pm 0.9$	
	+	$23.3 \pm 1.5$	45
어성초와 복분자 추출물 의 혼합물	-	$6.7 \pm 0.8$	
	+	$8.7 \pm 0.8$	93

<129>      +: 처리함, -: 처리하지 않음

<130> 1) 각 수치는 평균±표준오차(n=10)를 의미함.

<131> <실시에 4>

<132> 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물 제조

<133> 어성초 추출물과 복분자 추출물 외에 상기 실험예 1에서 비만세포의 탈과립 억제 효과가 있는 것으로 선별된 산수유, 산사 및 상엽을 추가로 혼합하여 혼합 추출물을 제조하였다. 상기 실시예 1의 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽을 16:16:1:1:1의 중량 비율로 혼합하여 다음과 같이 혼합추출물을 제조하였다. 상기 실험예 1에서 선별된 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽을 깨끗이 세척하여 일정한 크기(1 ×1 ×1cm 이하)로 자른 후 각각 어성초 160g, 복분자160g, 산수유 10g, 산사 10g, 산사 10g을 혼합한 생약제 350g에 정제수 3ℓ를 넣고 100℃에서 4시간 동안 가압 추출하였다.

<134> <실험예 6>

<135> 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물의 비만세포로부터 히스타민 유리 억제 효과 조사

<136> 상기 실시예 4에서 제조한 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추

출물이 compound 48/80에 의한 비만세포로부터의 히스타민 유리를 억제하는 효과가 있는지 조사하였다. 히스타민 유리 억제 효과는 상기 실험에 3과 동일한 방법으로 수행하였다. 이때, 비만세포에 처리하는 혼합물의 최종 처리 농도를 각각 0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 1.0 및 10.0mg/ml가 되도록 하였다.

<137> 실험 결과, 순수한 비만세포 부유액에 생리 식염수만을 첨가한 경우의 히스타민 유리율은 3.1%이었다. 상기 비만세포에 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물만을 처리한 경우의 히스타민 유리율은 생리 식염수만을 처리한 경우와 유사한 것으로 나타났다. 반면, 비만세포에 compound 48/80만을 처리한 경우의 히스타민 유리율은 56.7%로 매우 높게 나타났다. 또한, 상기 혼합 추출물을 각각 전처리한 후 compound 48/80을 처리한 경우에는 compound 48/80에 의한 비만세포로부터 히스타민의 유리가 억제되는 것을 확인할 수 있었다(표 6).

【표 6】

<138> 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물의 compound 48/80에 의한 비만세포의 히스타민 유리 억제

혼합물의 최종처리농도(mg/ml)	compound 48/80의 최종처리 농도(μg/ml)	히스타민 유리율(%)	히스타민 유리 억제율(%)
0	0	3.1±0.9 <sup>1)</sup>	
0	0.5	56.7±2.5	
0.01	0.5	37.2±2.8	37
0.025	0.5	20.2±1.9	68
0.05	0.5	19.7±1.5	69
0.1	0.5	17.4±0.5	74
1	0.5	15.0±0.9	79
10	0.5	11.5±0.3	86

<139> 1) 각 수치는 평균±표준오차(n=10)를 의미함.

<140> <실시예 5>

<141> 본 발명에 따른 생약제의 혼합 추출물을 포함하는 캡슐제의 제조

<142> 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 하는 캡슐제를 제조하였다. 또한, 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물을 유효성분으로 하는 캡슐제를 제조하였다.

<143> 상기 어성초와 복분자 추출물의 혼합물을 포함하는 캡슐제의 경우에는 상기 실시예 1에서 제조한 분말 형태의 어성초 추출물 100mg, 복분자 추출물 100mg 및 락토즈 100mg을 정확히 칭량한 다음 혼합기를 이용하여 균질하게 혼합하고 자동캡셀 충전기로 경질 젤라틴 캡슐(서흥캡셀(주))에 캡슐당 300mg씩 포함되도록 충전함으로써 제조하였다.

<144> 상기 어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽 추출물의 혼합물을 포함하는 캡슐제의 경우에는 상기 실시예 1에서 제조한 분말 형태의 어성초 추출물 80mg, 복분자 추출물 80mg, 산수유 추출물 10mg, 산사 추출물 10mg, 상엽 추출물을 각각 10mg 및 락토즈 110mg을 정확히 칭량한 다음 혼합기를 이용하여 균질하게 혼합한 후 자동캡셀 충전기로 경질 젤라틴 캡슐(서흥캡셀(주))에 캡슐당 300mg씩 포함되도록 충

진함으로써 제조하였다.

<145> <실험예 7>

<146> 본 발명에 따른 생약제 추출물 제제의 임상실험을 통한 항알레르기 효능 검증

<147> 상기 실시예 5에서 제조한 생약제 추출물 제제의 항알레르기 효능을 알레르기 질환 환자를 대상으로 검증하였다.

<148> 7-1) 임상 실험군의 분류

<149> 임상 실험군으로는 아토피성 피부염을 앓고 있는 10~70세의 다양한 연령의 남녀 환자 20명을 대상으로 하였다. 먼저, 상기 환자 20명을 5명씩 한 그룹으로 나누어 본 발명의 제제 투여군 1(어성초와 복분자의 혼합 추출물 포함, 표 7 참조), 본 발명의 제제 투여군 2(어성초, 복분자, 산수유, 산사 및 상엽의 혼합 추출물 포함, 표 7 참조), 기존 치료제 투여군(표 8 참조) 및 본 발명의 제제 1(어성초와 복분자 추출물의 혼합물 포함) 및 기존 치료제 병용 투여군(표 9 참조)으로 분류하였다.

<150> 상기에서 기존 치료제로는 스테로이드제로서 어드반탄(advantan, 웨링 제약회사), 락티케어(lacticare, 스티펠 제약회사), 에스파손 겔(esperson, 한독약품), 오라텍손(oradexion, 중외제약), 텍코실(dexcosil, 영진약품), 항히스타민제인 푸라롱(plokon, 영진약품), 프리말란(primalan, 부광약품), 알레그라

(allegra, 한독약품), 자디텐(zaditen, 노바티스 제약회사), 레미큐트(remicut, 코오롱 제약), 및 아토피성 피부염의 보조치료제로서 사용되는 달맞이꽃 종자유인 에포감(epogam, 한독약품)을 사용하였다.

【표 7】

<151> 본 발명의 제제 투여군

구분	연령/성별	투여량/ 투여방법	투여기간
케이스 1	8세/남	2캡슐/day(600mg/day) 경구 투여	2주 이상
케이스 2	12세/여	2캡슐/day(600mg/day) 경구 투여	2주 이상
케이스 3	22세/남	4캡슐/day(1.2g/day) 경구 투여	2주 이상
케이스 4	27세/여	4캡슐/day(1.2g/day) 경구 투여	2주 이상
케이스 5	7세/남	2캡슐/day(600mg/day) 경구 투여	2주 이상

【표 8】

<152> 기존 치료제 투여군

구분	연령/성별	치료제 종류 및 투여량	투여방법
케이스 1	8세/남	오라텍손 2.5mg 및 프라콩 1.5mg 1회/주, 2회/주(심할 때)	근육주사
		락티케어 연고, 2-3회/일	경피
		피리말론 시럽, 12.5ml씩 2회/일	경구
케이스 2	10세/여	오라텍손 2.5mg 및 프라콩 1.5mg 1회/주, 심할 때 2회/주	근육주사
		어드반탄 연고, 2회/일, 심한 곳	경피
		락티케어 연고, 2-3회/일, 심하지 않은 곳	경피
		에포감, 320mg씩 2회/일	경구
		알레그라, 60mg씩 2회/일	경구
케이스 3	35세/남	오라텍손 5mg 및 프라콩 3mg, 1회/주, 3회/주(심할때)	근육주사
		어드반탄 연고, 2회/일	경피
		락티케어 연고, 2-3회/일	경피
		에포감, 320mg씩 2회/일	경구
		알레그라, 180mg씩 2회/일	경구

케이스 4	22세/여	오라텍손 5mg 및 프라쿱 3mg	근육주사
		1회/주, 2회/주(심할때)	
		어드반탄 연고, 2회/일(심한곳)	경피
		락티케어 연고, 2-3회/일(전체적으로)	경피
		에포감, 320mg씩 2회/일	경구
케이스 5	24세/여	알레그라, 180mg씩 2회/일	경구
		오라텍손 5mg 및 프라쿱 3mg	근육주사
		1회/주, 2회/주(심할때)	
		에스파손 겔, 2회/일(심한곳)	경피
		에포감, 320mg씩 2회/일	경구
		알레그라, 180mg씩 2회/일	경구
		자디텐, 2mg씩 2회/일	경구

【표 9】

<153> 본 발명의 제제 및 기존 치료제 병용 투여군

구분	연령/성별	투여량/투여방법		투여기간
		본 발명 제제	기존 치료제	
케이스 1	31개월/여	2 캡슐/day(600mg/day)경구투여	어드반탄 연고, 1회/일(심한곳)	2주 이상
			테소실 연고, 1회/일(얼굴, 눈주위)	
			락티케어 연고, 1-2회/일(심하지 않은 곳)	
			에포감, 160mg씩 2회/일	
			프리말란 시럽, 7.5ml씩 2회/일	
케이스 2	37세/남	4 캡슐/day(1.2g/day)경구투여	프라쿱 3mg 주사, 1회/주, 2회/주(심할때)	2주 이상
			어드반탄 연고, 2회/일(심한곳)	
			락티케어 연고, 2-3회/일(전체)	
			알레그라, 180mg씩 1회/일	
			레미큐트, 2mg씩 2회/일	
케이스 3	9세/여	2 캡슐/day(600mg/day)경구투여	오라텍손 2.5mg 및 프라쿱 1.5mg 주사, 1회/주	2주 이상
			락티케어 연고, 2-3회/일(전체)	
			프리날론 시럽, 12.5ml씩 2회/일	
케이스 4	25세/여	4 캡슐/day(1.2g/day)경구투여	오라텍사 5mg 및 프라쿱 3mg, 1회/주, 2회/주(심할때)	2주 이상
			에스파손 겔, 2회/일(병변있는곳)	

케이스 5	22세/남	4	오라텍사 5mg 및 프라쿰 3mg, 1회/주	2주 이상
		캡슐/day(1.2g/day) 경구투여	에스파손 겔, 2회/일(병변있는곳)	

<154> 7-2) 알레르기 질환 환자의 혈청 내 IgE 및 히스타민의 측정

<155> 상기 실험예 7-1)의 각 실험군 환자의 치료 전과 후의 혈액을 채취하여 혈청을 수득하고 혈청 내 IgE 및 히스타민의 양을 측정하였다. IgE의 측정은 ECLIA(electrochemiluminescence immunoassay) 방법으로 실시하였다. 비오틴이 결합된 IgE 특이 항체(biotinylated monoclonal IgE-specific antibody)와 루테튬으로 표지된 IgE 특이 항체(monoclonal IgE-specific antibody labeled with a ruthenium) 복합체가 들어 있는 분석용 키트를 사용하여 수행하였다. 환자의 혈청 내 히스타민의 양은 상기 실험예 3과 동일한 방법으로 측정하였다.

<156> 실험 결과, 실험군 모두 치료 전에 비해 치료 후 혈청 내 IgE 및 히스타민 양이 감소되는 것으로 나타났다(표 10 및 표 11 참조). 또한, 본 발명 제제 투여군과 기존 치료제 투여군 및 본 발명 제제와 기존 치료제의 병용 투여군 간에 큰 차이는 없었다.



【표 10】

<157> 알레르기 질환 환자의 혈청내 IgE 측정치(IU/ml)

케이스/그룹	본 발명 제제 투여군 1		기존 치료제 투여군		본 발명 제제와 기존 치료제 병용 투여군	
	치료전	치료후	치료전	치료후	치료전	치료후
1	192.6	150.2	26.5	23.1	41.1	36.1
2	57.4	48.2	460.7	409.9	500	487
3	75.9	68.4	47.5	41.9	135.1	121.8
4	42.5	40.3	32.7	29.7	28.7	25.9
5	339.6	305.4	55.7	55.0	19.3	16.7

【표 11】

<158> 알레르기 질환 환자의 혈청 내 히스타민 측정치(nM)

케이스/그룹	본 발명 제제 투여군 1		기존 치료제 투여군		본 발명 제제와 기존 치료제 병용 투여군	
	치료전	치료후	치료전	치료후	치료전	치료후
1	135±5	125±5	140±10	135±5	145±15	145±5
2	140±5	135±10	165±5	140±10	140±10	140±10
3	150±15	145±10	135±10	130±10	135±5	130±10
4	135±10	130±10	140±15	140±5	140±5	130±10
5	155±5	145±10	125±10	120±10	130±10	125±10

<159> 7-3) 알레르기 질환 환자 병변의 임상적 관찰

<160> 상기 실험예 7-1)의 각 실험군 환자의 병변을 임상적으로 관찰하였다. 아토피 피부염의 병변은 소양증이 심한 홍반성 구진(erythematous papule)과 수포(vesicle)가 발생하고 긁으면 심출성 병변이 발생, 찰상(excoriation), 홍반성 혹은 인설이 덮인 구진(papule)과 판(plaque)이 발생 및 반복된 소파로 인한 태선화

(lichenification)가 발생하는 등의 다양한 병변의 특징이나 증상이 증감되는 정도를 관찰함으로써 호전 정도를 판단하였다.

<161> 실험 결과, 본 발명에 따른 제제 1 또는 2를 투여한 아토피성 피부염 환자의 경우 손바닥(palm)에 균열(fissure)을 동반한 테선양 병변(피부가 거친 현상)이 호전되는 양상을 보였으며(도 3의 A 및 B), 슬와(popliteal fossae)의 둥근 홍반성 반점(erythematous macule)이 호전됨을 확인할 수 있었다(도 3의 C 및 D). 또한, 기존 치료제를 투여한 실험군에서는 전주와(antecubital fossae)의 둥근 홍반성 반점(round erythematous plaque)의 호전과 안면에 인설(scale)을 동반한 습진성 병변이 호전됨을 관찰할 수 있었으며(도 4의 A 및 B 참조), 기존 치료제와 본 발명 제제를 병용 투여한 실험군의 경우에도 안면에 인설을 동반한 습진성 병변이 호전된 것을 볼 수 있었다.

<162> 따라서, 본 발명에 따른 생약재 추출물을 포함하는 조성물이 종래의 스테로이드성 치료제와 거의 동일하게 알레르기 질환을 치료하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

<163> <실시예 6>

<164> 본 발명에 따른 생약재의 혼합 추출물을 포함하는 음료 조성물의 제조

<165> 상기 실시예 1의 어성초 추출물 20%, 복분자 추출물 20%, 비타민 A 0.15%,

비타민 D 0.2%, 비타민 B2 0.15%, 비타민 C 2.0%, 타우린 3.0%, 폴리텍스트로즈 2.5%, 정제수 잔여량을 혼합하여 음료 조성물을 제조하였다.

#### 【발명의 효과】

<166> 이상, 상기 실시예를 통하여 설명한 바와 같이 본 발명에 따른 어성초 추출물과 복분자 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 및 치료용 조성물은 알레르기 질환을 예방 또는 치료하는 효과가 있으며, 세포독성을 나타내지 않아 생체에 안전하게 사용할 수 있는 효과가 있다.

## 【특허청구범위】

### 【청구항 1】

어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 치료용 약학적 조성물.

### 【청구항 2】

어성초와 복분자의 혼합 추출물을 유효성분으로 함유하는 알레르기 질환의 예방 또는 개선용 식품 조성물.

### 【청구항 3】

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물이 열수 추출물 또는 유기용매 추출물임을 특징으로 하는 조성물.

### 【청구항 4】

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 어성초와 복분자의 혼합 추출물은 어성초와 복분자가 1:4~4:1의 중량비율로 혼합되어 있는 것을 특징으로 하는 조성물.

### 【청구항 5】

제1항 또는 제2항에 있어서, 산수유, 산사 및 상엽 추출물로 이루어진 그룹

중에서 선택된 어느 하나 이상을 추가로 함유하는 것을 특징으로 하는 조성물.

**【청구항 6】**

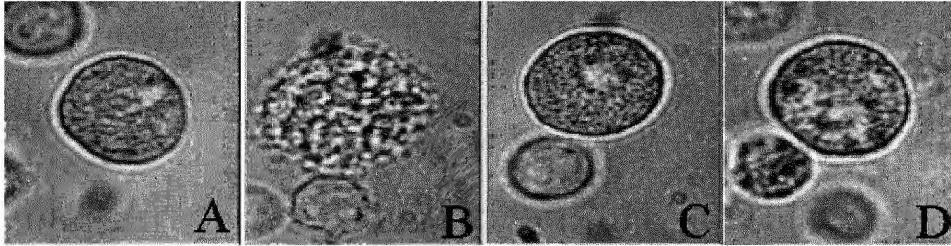
제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 알레르기 질환이 알레르기성 천식, 알레르기성 비염, 알레르기성 중이염, 아나필락틱 쇼크(anaphylatic shock) 및 알레르기성 피부질환 중에서 선택된 것임을 특징으로 하는 조성물.

**【청구항 7】**

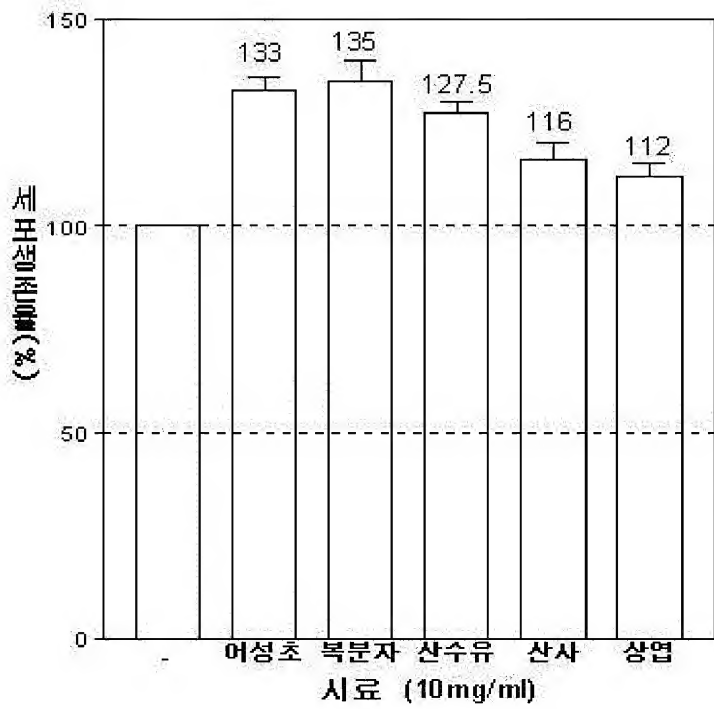
제6항에 있어서, 상기 알레르기성 피부질환이 아토피 피부염, 건선, 접촉성 알레르기 피부염 및 두드러기 중에서 선택된 것임을 특징으로 하는 조성물.

【도면】

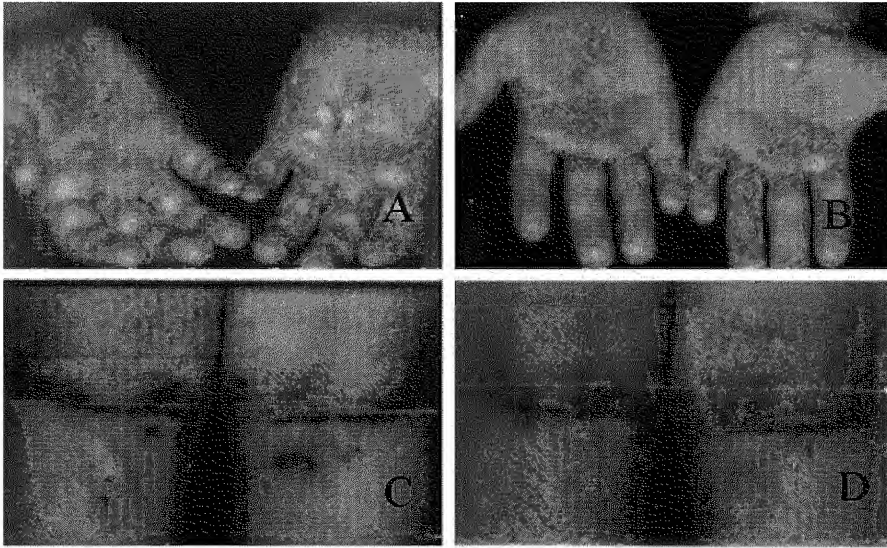
【도 1】



【도 2】



【도 3】



【도 4】

